

令和 元年 9 月 10 日

海外特別研究員最終報告書

独立行政法人 日本学術振興会 理事長 殿

採用年度 H29

受付番号 230

氏 名 木村可生

(氏名は必ず自署すること)

海外特別研究員としての派遣期間を終了しましたので、下記のとおり報告いたします。

なお、下記及び別紙記載の内容については相違ありません。

記

1. 用務地（派遣先国名）用務地： ボストン （国名： 米国 ）
2. 研究課題名（和文）※研究課題名は申請時のものと変わらないように記載すること。
光観察技術が解き明かす意欲を司る神経基盤
3. 派遣期間： 平成 29 年 9 月 1 日 ~ 令和 元年 8 月 31 日
4. 受入機関名及び部局名
Center for Brain Science, Dept. Molecular and Cellular Biology, Harvard University
5. 所期の目的の遂行状況及び成果…書式任意 **書式任意（A4 判相当 3 ページ以上、英語で記入可）**
(研究・調査実施状況及びその成果の発表・関係学会への参加状況等)
(注)「6. 研究発表」以降については様式 10-別紙 1~4 に記入の上、併せて提出すること。

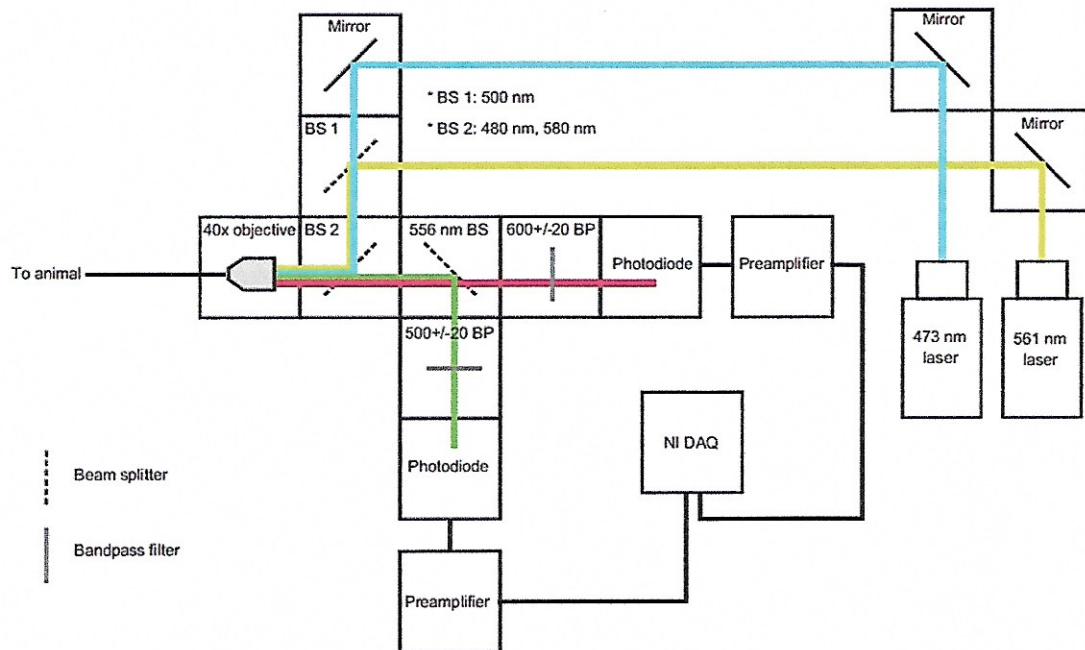
本申請課題の大目的は「意欲の神経メカニズムを光観察技術を用いて解き明かすこと」である。

研究課題提案時には、報酬などのポジティブなゴールに向かって意欲的に行動する、その原理を理解することに重きをおいてきた。その背景には、そもそも意欲的な行動はポジティブなものを得るときに必要とされる、という概念が受け入れられていること。また、ドパミンニューロンや線条体ニューロンなど、その機能に関わる神経群の存在や、それらの動作原理が先行して調べられてきたことが起因している。しかし、意欲的な行動はポジティブなものに対してだけでなく、ネガティブなものを避けるときにも必要であることが、近年分かってきた。身近な例を挙げると、健康維持のためのジョギングや、防災予防の訓練・準備などがそれに相当する。ヒト以外の動物においても、この忌避意欲行動は保存されている。例えばマウスなどのげっ歯類は、レバー押しをすればフットショックを回避できる、という条件下に置かれると、レバー押しを行う (Tsutsui-Kimura et al., Int. J. Neurosci., 2017)。忌避意欲行動の神経メカニズムは長年、偏桃体を中心に調べられてきたが、決定的な証拠は得られてこなかった。興味深いことに、ちょうど申請者が受入れ研究室先で研究を始めたころ、報酬系の要とされてきたドパミンニューロンが忌避行動に関わっていることが発見された (Menegas et al., Nat. Neurosci., 2018)。この発見はこれまで敷かれていた報酬系（ドパミン）と嫌悪系（偏桃体）という一般化されつつある概念を壊し、目的を持った行動（意欲行動）の動作原理を包括的に理解する、その足掛かりであると申請者はとらえた。

以上の背景より、本申請課題は報酬獲得/嫌悪回避の両方の観点から意欲行動の神経メカニズムをひも解くことに拡大する方針を固めた。(中間報告によりすでに報告済み)

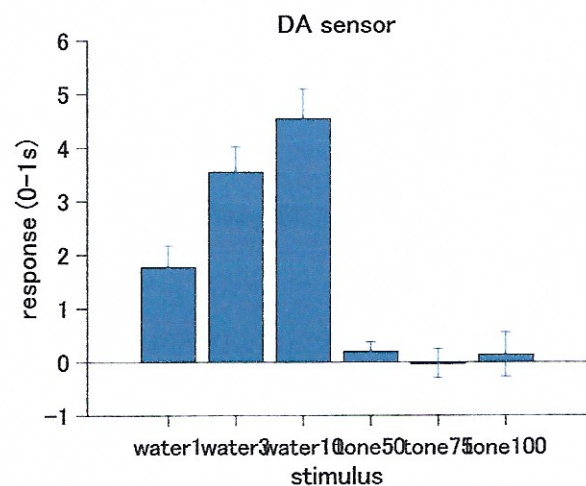
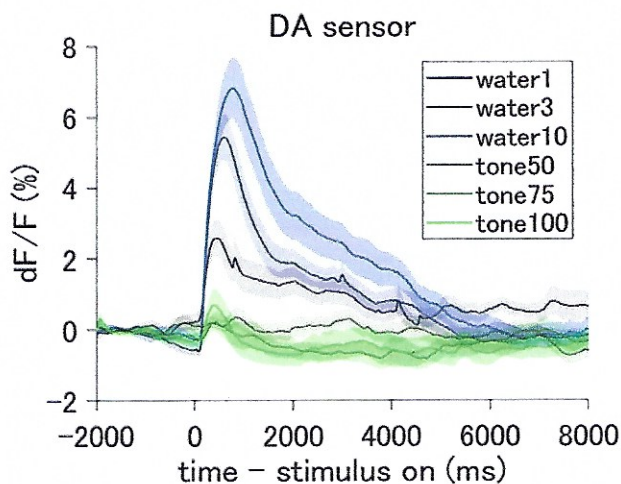
一年目で報酬獲得/嫌悪回避の両方の意欲行動を観察するのに適した行動課題の作成・確立に成功し

た。二年目では、これらに関連するドパミン神経細胞の活動観察を可能とするファイバーフォトメトリー技術の立ち上げとその動作確認を行った。以下の図のように、二色（473 nm, 561 nm）のレーザー光を用いて、青と緑の光を蛍光たんぱく質は発現しているマウス脳内へ照射し、返ってきた蛍光の強度を電圧に変換し、その大きさを計測する機器を組み立てた。



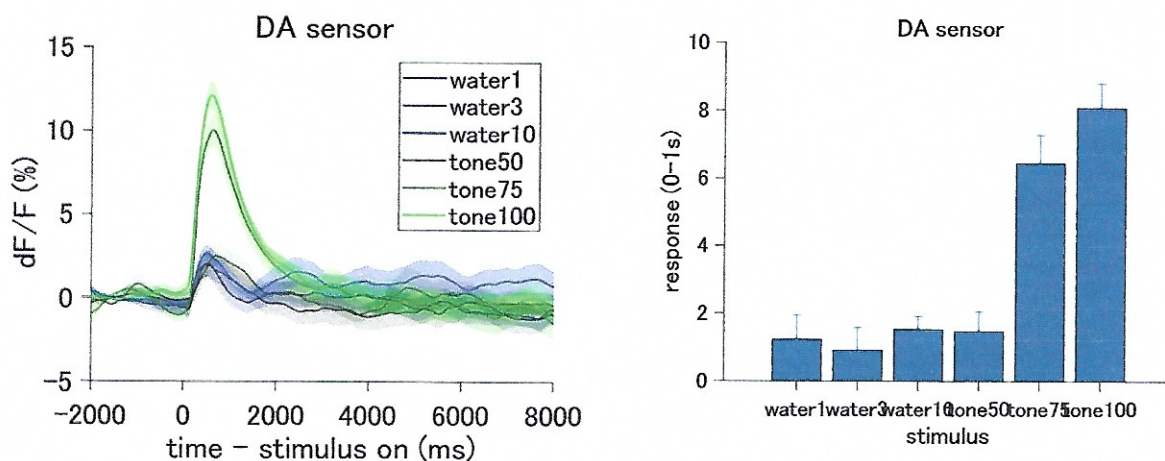
ドパミン神経細胞の活動を観察するために、新規開発されたドパミンセンサー (Sun et al., Cell, 2018) を用いた。ドパミンセンサーは、細胞外のドパミンと結合し、結合によって蛍光タンパク GFP を細胞膜外へと移行させる機能を有しているため、上述したファイバーフォトメトリーを用いることによって、青色蛍光の強度から、記録部位の細胞外ドパミン濃度の測定を可能とする。ドパミンセンサーとともに赤色蛍光タンパクである tdTomato を同時に発現させ、細胞外ドパミン濃度由来以外で生じる蛍光強度の変化を同時に測定し、これをコントロールとした。

以上の技術を用いて、まずは報酬系との関連が多く報告されている、腹側線条体 (VS) へ投射するドパミン神経の報酬獲得時の活動を観察した。水摂取制限を施したマウスの頭部を固定し、ファイバーフォトメトリーにより VS におけるドパミン放出量の変化を観察しながら、異なる量の水、または異なる大きさの音をランダムなタイミングで与えた。



上図のように、VSにおけるドパミン放出量は与えられた水の大きさに依存して大きくなった。また、音を負荷したことによる変化は見られなかった。

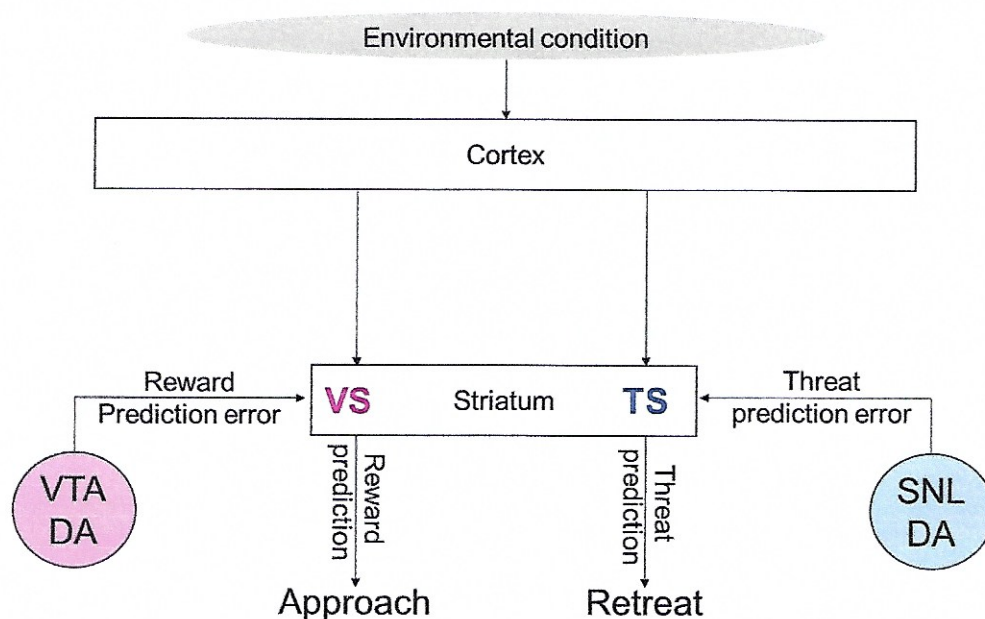
次に、嫌悪系との関連が報告されている、taste of the striatum (TS)へ投射するドパミン神経の活動を、同様の課題中に測定した。



上図のように、TSにおけるドパミン放出量はVSのそれとは異なり、音の強度に依存して変化した。一方で水の負荷による変化は見られなかった。

これらの結果は先行研究 (Menegas et al., Nat. Neurosci., 2018) と一致した。よって、ファイバーフォトメトリーとドパミンセンサーを用いた、報酬関連ドパミン活動および忌避関連ドパミン活動を計測する系の確立に成功した。

これまでの研究成果を加味して、新たに作成した意欲行動のメカニズムの仮説は以下のとおりである。



今後は、上記仮説を光観察技術と光操作技術を用いて、解明に迫る。